



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cannabis sativa*
sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con
Gentamicina.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTORA:

Chacón Solís, Shanel Marithain (ORCID: 0000-0003-3057-0584)

ASESORES:

Mgtr. Rodríguez Díaz, David Rene (ORCID: 0000-0002-9203-3576)

Mgtr. Blg. Jaime Abelardo Polo Gamboa (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A mi familia, el marcapasos que impulsa mi vida. Los echo mucho de menos como los amo, de manera salvaje.

SHANEL MARITHAIN CHACÓN SOLIS

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi familia, por brindarme lo mejor de ellos y ser mis personas favoritas, por darme la fortaleza, confianza y acompañarme en la realización de mis sueños y metas.

Trulis, por tantas tardes respirando sobre mi regazo mientras construía esta tesis. Aunque tu partida me destrozara durante este camino.

A mis asesores por compartir su conocimiento y por la paciencia vertida en este proyecto.

Agradecimiento especial para el Dr. Franz Rojas Gallardo y a Fundación Evidencia Cannabis Perú por confiar en mí, por el apoyo incondicional y desinteresado otorgado para el desarrollo de esta tesis.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Carátula.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice de contenidos.....	iv
Índice de tablas.....	v
Índice de Figuras.....	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
III. METODOLOGÍA.....	7
3.1 Tipo y diseño de investigación.....	7
3.2 Variables y operacionalización.....	7
3.3 Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis.....	8
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	8
3.5 Procedimientos.....	9
3.6 Método de análisis de datos.....	9
3.7 Aspectos éticos.....	9
IV. RESULTADOS.....	10
V. DISCUSIÓN.....	15
VI. CONCLUSIONES.....	17
VII. RECOMENDACIONES.....	18
VIII. REFERENCIAS.....	19
ANEXOS.....	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de <i>Cannabis sativa</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 comparado con Gentamicina 10 µg.....	10
Tabla 2. Prueba de normalidad de efectos antibacterianos.....	11
Tabla 3. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes.....	11
Tabla 4. Comparaciones múltiples de los efectos antibacterianos por tipo de dilución antibacteriana experimentada en estudio.....	13

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prueba de Kruskal-Wallis de muestras independientes.....	12
Figura 2. Comparaciones por parejas de dilución antibacteriana.....	14

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cannabis sativa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Gentamicina 10µg (control positivo), empleando las concentraciones de 15 mg/ml, 30 mg/ml, 70 mg/ml y 100 mg/ml mediante el método de disco difusión de Kirby-Bauer, se realizaron 10 repeticiones por cada grupo, haciendo un total de 60. Se observó que desde la concentración de 30mg/ml en adelante, existe actividad antibacteriana contra este patógeno. La concentración de 100mg/ml mostró la mayor actividad con una media de halos inhibitorios de 22.7mm (DE ± 1.7 mm IC 95%, con valor mínimo de 20.5 y un máximo de 25.5mm), superando la media de actividad antibacteriana que presentó gentamicina de 20.9mm (DE ± 1.4 mm IC 95%, con halo inhibitorio máximo de 24.5mm). Los datos que se obtuvieron fueron analizados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para muestras independientes, indicando que el aceite esencial de *Cannabis sativa* tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*, además las estadísticas de prueba revelaron que el efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial utilizado y la gentamicina fueron similares.

Palabras clave: Efecto antibacteriano, *Staphylococcus aureus*, *Cannabis sativa*, gentamicina.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the in vitro antibacterial effect of *Cannabis sativa* essential oil on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared to Gentamicin 10µg (positive control), using concentrations of 15 mg/ml, 30 mg/ml, 70 mg/ml and 100 mg/ml using the Kirby-Bauer diffusion disk method, 10 repetitions were performed for each group, making a total of 60. It was observed that from the concentration of 30mg/ml onwards, there is antibacterial activity against this pathogen. The concentration of 100mg / ml showed the highest activity with an average of inhibitory halos of 22.7mm (SD \pm 1.7mm 95% CI, with a minimum value of 20.5 and a maximum of 25.5mm), exceeding the average antibacterial activity that gentamicin presented. 20.9mm (SD \pm 1.4mm 95% CI, with a maximum inhibitory halo of 24.5mm). The data obtained was analyzed using the Kruskal-Wallis non-parametric test for independent samples , indicating that the essential oil of *Cannabis sativa* has an in vitro antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* , in addition the test statistics revealed that the antibacterial effect of the concentrations of the essential oil used and gentamicin were similar.

Key words: Antibacterial effect, *Staphylococcus aureus*, *Cannabis sativa* , gentamicin.

I. INTRODUCCIÓN

El *Staphylococcus aureus* (SA) es una bacteria Gram positiva que presenta forma de cocos en racimos al observarse microscópicamente. Puede formar parte de la flora del cuerpo humano, encontrándose en la piel, aparato digestivo y también en la faringe, en un 12-30% de sanos colonizados. Es causante de gran variedad de infecciones frecuentes y oportunistas adquiridas en la comunidad y también asociadas a los nosocomios, donde se ha visto incrementada su presencia.¹

Se sabe que la antibioticoterapia en el área sanitaria se relaciona con el descubrimiento de la penicilina cerca de 1928, y se utilizó durante la II Guerra Mundial. Con el transcurso del tiempo, el patógeno en mención generó resistencia a este tratamiento, que a través del tiempo se ha ido incrementando.²

Los escasos organismos que quedan tras el tratamiento antibiótico subsisten desarrollando la crianza de organismos más fuertes y resistentes, requiriendo tratamientos más potentes. Todo esto empeora con el consumo excesivo e indiscriminado de antibióticos, favoreciendo la resistencia, por lo que con el pasar del tiempo se hacen menos eficaces y crean un círculo vicioso, haciendo que su tratamiento suponga un verdadero reto. ²

Los *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) son una familia de súper bacterias resistentes a antibióticos. Según el Centro para la Prevención y Control de Enfermedades de EE.UU, la resistencia antibiótica causa 2 millones de infecciones y 23 000 muertes por año, sobrecargando en 35 millones de dólares los gastos en salud, pudiendo ser mayor en países de Latinoamérica.³

Un estudio de vigilancia en países latinoamericanos, incluido Perú, concluyó que nuestro país posee un índice de prevalencia de 79% para SARM, siendo de las más altas que se han reportado mundialmente, lo que genera la necesidad imperiosa de desarrollar una nueva generación antibiótica capaz de frenar a estos patógenos.⁴

La fitoterapia, es decir, el uso medicinal de las plantas forma parte de la medicina alternativa y complementaria, pero remonta sus inicios a nuestros antepasados. *Cannabis sativa* ha sido de las primeras plantas en ser cultivadas por el hombre para usarse como fibra hacia los años 4000 a.C. Sin embargo se tiene conocimiento de su utilidad medicinal gracias al emperador chino Sheng Nung, hacia el año 2700

a.C, quien describió sus efectos antiinflamatorios, anticonvulsivantes, analgésicos, sedantes y antiespasmolíticos.⁵

En 2008, científicos de la Universidad del Piemonte Oriental de Italia y de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Londres estimaron las cualidades de 5 cannabinoides contra una variedad de patógenos resistentes dentro de los que se incluyó a *SARM*. Concluyeron que dichos compuestos presentaron poderoso efecto antibacteriano y fueron excepcionales contra el crecimiento bacteriano de dichos organismos.⁶

El problema que se planteó en esta investigación fue: ¿El aceite esencial de *cannabis sativa* tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Gentamicina a 10µg?

El objetivo de esta investigación fue comprobar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cannabis sativa* sobre *Staphylococcus aureus*, cuya actividad fue comparada con la de gentamicina, un antibiótico estándar utilizado en el tratamiento para combatir este patógeno.

Es importante realizar este tipo de estudios pues la resistencia antibiótica es de los mayores problemas clínicos y de salud pública. Se presenta debido a la adaptación de los organismos infecciosos a los antimicrobianos que se emplean en varias áreas, incluidas las industrias de medicamentos, alimentos, animales, producción de cultivos y desinfectantes en granjas, hospitales y hogares. Las bacterias han desarrollado resistencia a todos los antibióticos disponibles en el mercado y, por lo tanto, la carga económica asociada con bacterias resistentes a múltiples fármacos es alta. Para encontrar nuevos agentes antibacterianos con nuevos modos de acción, se han explorado las plantas como fuentes de antibacterianos efectivos, y seguros.⁷

La utilización de plantas con fines terapéuticos se remonta al comienzo de la historia humana. Se estima que aproximadamente una cuarta parte de todos los medicamentos en las farmacopeas modernas se derivan de las plantas. Además, se cree que las plantas o sus extractos son bastante más seguros para los humanos. Según la Organización Mundial de la Salud, alrededor del 80% de la

población de países en vías de crecimiento, depende de las plantas como su única fuente asequible de medicamentos.⁸

Las plantas producen una amplia gama de fitoquímicos y generalmente se acepta que una parte importante de esta diversidad química está relacionada con mecanismos de defensa y/o estrés, incluida la actividad antibacteriana in vitro.⁹

En Perú se dispuso una la Ley N° 30681, que reglamenta el uso medicinal del cannabis y sus derivados, para afianzar el acceso a la planta y resguardar las necesidades sanitarias de pacientes que lo ameriten. En nuestro país no existen estudios relacionados a la medicina cannábica, y siendo esta una planta que ha mostrado múltiples beneficios en lo que a salud respecta y además mostró una importante actividad antibacteriana incluso contra cepas resistentes, es imperioso explotar sus propiedades. Los resultados que se muestran en el presente estudio pueden servir de base a futuros estudios para así impulsar la búsqueda y el desarrollo de nuevos antibióticos.¹⁰

Las hipótesis planteadas en el estudio fueron:

H1: El aceite esencial de *Cannabis sativa* tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Gentamicina a 10µg.

H0: El aceite esencial de *Cannabis sativa* no tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Gentamicina a 10µg.

El objetivo general planteado fue: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cannabis sativa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Los objetivos específicos fueron establecer la eficacia antibacteriana de *Cannabis sativa* a las concentraciones de 15 mg/ml, 30 mg/ml, 70 mg/ml y 100 mg/ml sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. También se evaluó la eficacia antibacteriana in vitro de la Gentamicina 10µg y adicionalmente el DMSO sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MARCO TEÓRICO

Tandon C, et al. (India, 2017) evaluaron el efecto antibacteriano de los extractos de *Cannabis sativa* sobre *Staphylococcus aureus* y 2 patógenos más, midiendo el diámetro de la zona de inhibición. De los tres extractos, el etanólico tuvo mayor efectividad frente a todas las cepas en estudio, mostrando actividad moderada (19mm) contra S.A y el valor de concentración mínima inhibitoria (CMI) fue 25 mg/ml.¹¹

Kaur S, et al. (India, 2015) compararon la potencia antimicrobiana de tres malezas comunes que incluyeron a *Cannabis sativa*, frente a 6 organismos infectantes del lugar, que incluía a *Staphylococcus aureus*. Los resultados revelaron que el extracto de hojas orgánicas fue más efectivo que el acuoso y, de entre todos los extracto de la planta, el metanólico mostró mayor eficacia en comparación con las otras malezas, con un halo inhibitorio máximo de 25.6 mm contra esta bacteria.¹²

Naveed M, et.al. (Pakistán, 2014) evaluaron la eficacia antimicrobiana del extracto de hojas de *Cannabis sativa* contra patógenos como *Staphylococcus aureus*, mediante la utilización de extracto etanólico y de agua caliente. La zona inhibitoria más grande la produjo el extracto etanólico, que evidenció importante actividad con un halo inhibitorio de 24.1mm.¹³

Monika, et al. (India, 2014) seleccionaron hojas de *Cannabis sativa* y evaluaron su efecto antimicrobiano frente 4 patógenos, incluyendo *Staphylococcus aureus*. Tanto el extracto etanólico como el de agua tuvieron un halo inhibitorio de 14mm p o r igual, sin embargo emplearon concentraciones de 31 y 126 mg respectivamente.¹⁴

Sarmadyan H, et al. (Iran, 2014) estudiaron la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *C. sativa*, que evidenció una zona inhibitoria de 12mm para SARM, y de 14mm para *S. aureus* 25923. La CMI frente a *S.aureus* 25923 fue de 25 µg/ml y de 50 µg/ml para SARM.¹⁵

Ali E, et al. (Sudán, 2012) evaluaron el efecto antimicrobiano del aceite y extracto metanólico de semillas de *Cannabis sativa* contra dos organismos Gram positivos: que incluía a *Staphylococcus aureus*, dos Gram negativos, y dos hongos. Se determinó la CMI, demostrando que el aceite de las semillas tuvo una pronunciada

actividad antimicrobiana de 28 mm, a diferencia del extracto metanólico que tuvo una pobre actividad de 12 mm.¹⁶

Borchardt J, et al. (Minnesota, 2008) determinaron el efecto antimicrobiano de extractos de tallos, hojas, flores y raíces de 336 especies nativas y naturales de Minnesota y Wisconsin contra *Staphylococcus aureus*, y otros dos organismos. Los extractos de *Cannabis sativa* mostraron muy buena actividad sólo contra SA, con un halo inhibitorio 25 mm.¹⁷

Appendino G, et al. (Italia, 2008) estudiaron la eficacia antibacteriana de cinco principales cannabinoides: tetrahidrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), cannabigerol (CBG), cannabinol (CBN), cannabicromeno (CBC). Obtuvieron resultados de su estructura y efecto microbicida, contra cepas de *Staphylococcus aureus*, incluidas las resistentes a meticilina, fluoroquinolonas, macrólidos y tetraciclinas. Concluyeron que todos los compuestos tuvieron potente efecto antimicrobiano, con resultados de CMI en un rango de 0,5-2 µg/ml. La actividad fue excepcional contra algunas de las cepas, especialmente la resistente a múltiples fármacos y que además presenta gran resistencia hacia algunas quinolonas.⁶

Cannabis nombrada popularmente como marihuana, es una planta perteneciente a la familia *Cannabaceae*, género cannabis. Posee 3 subespecies: *sativa*, que crece en lugares tropicales cercanos a Ecuador, *indica* que es natural de zonas montañosas alejadas de trópicos y *ruderalis* que habita en zonas con bajas temperaturas.¹⁸

En botánica se puede definir como planta herbácea, presentando tallo recto y duro, además su sección transversa es cilíndrica, posee raíz en pivote con ramas chicas y frágiles verdosas oscuras. Es una planta dióica, los machos y hembras son de fácil diferenciación, siendo el género femenino más frondoso y muestra mayor fuerza a comparación del masculino, que es una planta pequeña, delgada y marchita rápidamente producida la floración.¹⁹

Se ha identificado a muchos cannabinoides, de los más estudiados: THC, CBD, CBN, CBC y CBG, que se encuentran en diversas proporciones según el tipo. Esta planta tiene una compleja composición química, y se describen más de 400

componentes entre mono y sesquiterpenos, hidrocarburos, esteroides, azúcares, flavonoides, compuestos nitrogenados y aminoácidos.^{20, 21}

Los alcaloides son compuestos de nitrógeno, a cargo de la defensa de las plantas contra los patógenos entéricos y son ampliamente utilizados como productos farmacéuticos, psicoestimulantes, narcóticos y venenos debido a sus actividades biológicas, pues se ha encontrado que posee actividad microbicida por su capacidad de intercalar con el ADN.²²

Los fenoles son los compuestos que proporcionan pigmentos naturales para dar color a los frutos de las planta, éstos se sintetizan principalmente a partir de fenilalanina a través de la acción de la fenilalanina amoniaco liasa (PAL) en las plantas. Se piensa que los lugares y la cantidad de grupos hidroxilo de éstos están directamente relacionados con su toxicidad para microorganismos, debido a que el aumento de la hidroxilación ocasiona aumento de la toxicidad debido a que son más altamente oxidados.²³

Dentro de sus mecanismos de acción tóxica contra microorganismos está la inhibición enzimática gracias a los compuestos oxidados, posiblemente porque reacciona con los grupos sulfhidrilo o por interacción inespecífica con las proteínas.²⁴

La fragancia de las plantas se debe a la presencia de fracción de aceite esencial que son metabolitos secundarios altamente enriquecidos en compuestos basados en la estructura de anisopreno y se llaman terpenos. Cuando los compuestos contienen elementos adicionales, generalmente oxígeno, se denominan terpenoides los cuales son activos contra bacterias, hongos, virus y protozoos. Su mecanismo de acción no se comprende completamente, pero se cree que implica alteración de la membrana por parte de los compuestos lipofílicos.²⁵

Los flavonoides son un grupo importante de polifenoles ampliamente distribuidos entre la flora vegetal que las plantas producen en respuesta a proceso infeccioso microbiano; son sustancias eficaces contra una amplia gama de microorganismos ya que podría formar complejos con proteínas extracelulares y solubles, así como con las paredes celulares bacterianas, induciendo interrupción de la membrana celular microbiana.²⁶

Las saponinas se comportan como el jabón en el agua, ejercen actividad antibacteriana al combinarse con las membranas celulares para provocar cambios morfológicos en la célula que la llevan a la muerte. Son usadas en hipercolesterolemia, hiperglucemia y también tienen actividades antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria y antifúngica. Los glucósidos son los productos de condensación de azúcares con diferentes variedades de compuestos orgánicos de hidroxilo o tiol. Sirve como defensa vegetal contra la depredación por muchos microorganismos, insectos y herbívoros.²⁷

III. METODOLOGÍA

3.1 TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

TIPO DE ESTUDIO: Básico.²⁸

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Experimental con repeticiones múltiples, post pruebas. Se trabajó con un total de 6 grupos de cepas de *Staphylococcus aureus* 25923, en los primeros 4 se aplicó las diversas diluciones del aceite esencial de *Cannabis sativa* (100mg/ml, 70 mg/ml, 30 mg/ml y 15 mg/ml), el quinto grupo se usó para el control positivo con Gentamicina a 10µg y el último para el control negativo utilizando dimetilsulfóxido, aplicándose 10 repeticiones por cada grupo. Finalmente se evaluó el efecto antibacteriano mediante el diámetro del halo inhibitorio, que indica su sensibilidad o resistencia frente a este patógeno.²⁸ (ANEXO 01)

3.2 VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

Variable independiente: Agente antibacteriano

- a. Aceite esencial de *Cannabis sativa* a concentraciones de 100mg/ml, 70 mg/ml, 30 mg/ml y 15 mg/ml.
- b. Gentamicina a 10 µg.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano

- a. Eficaz: si halo de inhibitorio ≥ 18 mm.
- b. No eficaz: si halo inhibitorio < 18 mm.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES (ANEXO 02)

3.3 POBLACIÓN MUESTRA Y MUESTREO

Población: cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 cultivadas en el laboratorio "San José.

Unidad de análisis: cada cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Unidad de muestra: cada placa de cultivo de la bacteria.

Muestra: se empleó la fórmula estadística que establece semejanza en el promedio de las medidas de los halos de inhibición, obteniéndose 10 repeticiones por cada grupo de experimentación.²⁹ (ANEXO 03)

Muestreo: aleatorio simple.²⁹

Criterios de selección:

Se incluyeron: las cepas del agente bacteriano viables conservada entre 0-5°C, con 24 horas de cultivo.

Se excluyeron: los cultivos de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 contaminados y en los que no se evidenció crecimiento bacteriano.

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica usada fue la observación directa del crecimiento de bacterias sembradas en las placas Petri.

Como instrumento se empleó la ficha de recolección de datos en la que se evidencian el número de placas, la concentración del aceite y la medida de la zona de inhibición expresada en milímetros. (ANEXO 04)

3.5 PROCEDIMIENTO: El presente estudio consignó los siguientes pasos:
(ANEXO 05)

Se obtuvieron las 4 diferentes concentraciones del aceite esencial de *Cannabis sativa* a través de la Fundación Evidencia Cannabis Perú.

La ejecución del proyecto se realizó en las instalaciones del Laboratorio “San José”. (ANEXO 06)

Se usó el medio de cultivo Müller- Hinton, en el cual se determinó la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, según las normas del Center for the Study of Language and Information (CLSI) y el Breakpoint Tables del EUCAST, considerando los estándares M02-A12 y M100.^{30, 31}

3.6 MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS

Se usó la estadística descriptiva, los resultados se consignaron en tablas en Excel, posteriormente fueron analizados en el software estadístico IBM SPSS V.25. Se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de los efectos antibacterianos que evidenció una distribución anormal, por lo que se aplicó una prueba no paramétrica análoga al análisis de varianza (ANOVA), el test de Kruskal-Wallis para muestras independientes, cuya decisión rechaza la hipótesis nula, e indica la existencia de diferencias significativas en algunas de las concentraciones del estudio.³²

3.7 ASPECTOS ÉTICOS

Para la ejecución de esta investigación se tomaron en cuenta las recomendaciones establecidas en la Declaración de Helsinki y del Artículo 5 de la Ley N°30681, que regula el uso medicinal y terapéutico del Cannabis y sus derivados, que a través del Instituto Nacional de Salud del MINSA otorga la licencia para la investigación científica en salud con fines medicinales a las universidades autorizadas por la SUNEDU e organismos que se dedican a la investigación en salud.^{10, 33}

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Descripción del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cannabis sativa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Gentamicina 10 µg.

Tratamiento	Media	DE	Error estándar	95% de IC para la media		Mín.	Máx.
				LI	LS		
15 mg/ml	16.8	1.6	0.5	15.8	17.9	14.8	20.6
30 mg/ml	20.3	1.1	0.4	19.6	21.0	17.7	21.7
70 mg/ml	20.8	1.3	0.4	20.0	21.6	18.6	22.5
100 mg/ml	22.7	1.7	0.5	21.6	23.7	20.2	25.5
Gentamicina 10 µg	20.9	1.4	0.4	20.0	21.7	19.6	24.5
Dimetilsulfóxido	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Total	16.9	7.9	1.0			0.0	25.5

DE=Desviación típica; LI= límite inferior; LS= límite superior

Fuente: Reporte de IBM SPSS.

Tabla 2. Prueba de normalidad de efectos antibacterianos.

Pruebas de normalidad			
	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Estadístico	gl	Sig.
Actividad bacteriana	.278	60	.000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

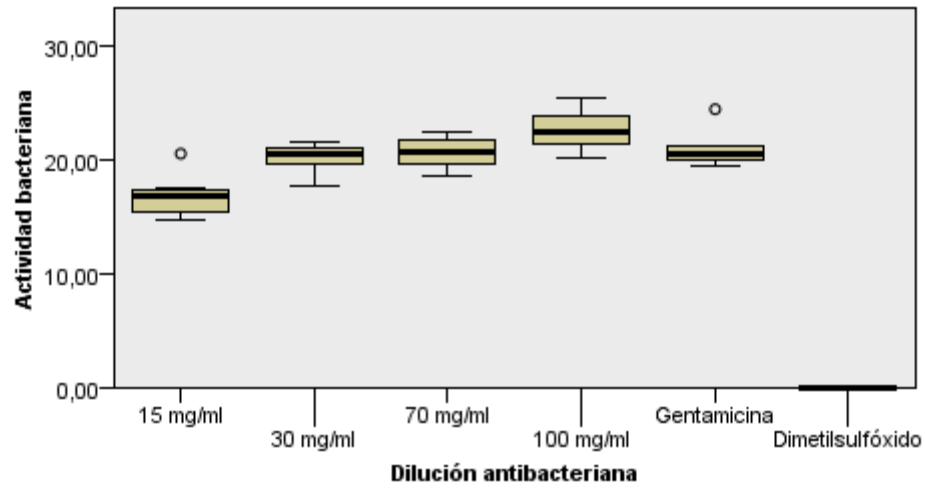
Fuente: Reporte de IBM SPSS.

Tabla 3. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

	Test	Sig.	Decisión
La distribución de actividad bacteriana es la misma entre las categorías de dilución antibacteriana	Prueba de Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,000	Rechazar la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es 0,05

Fuente: Reporte de IBM SPSS.



N total	60
Probar estadística	43,940
Grados de libertad	5
Sig. asintótica (prueba de dos caras)	,000

Figura 1. Prueba de Kruskal-Wallis de muestras independientes

Tabla 4. Comparaciones múltiples de los efectos antibacterianos por tipo de dilución antibacteriana experimentada en estudio

Pruebas Post-Hoc

Muestra1-Muestra2	Prueba estadística	Error típico	Desv. Prueba estadística	Sig	Sig. Ady.
Dimetilsulfóxido-15mg/ml	11,5	7,79	1,476	0,140	1,000
Dimetilsulfóxido-30mg/ml*	29,5	7,79	3,787	0,000	0,002
Dimetilsulfóxido-Gentamicina*	30,75	7,79	3,947	0,000	0,001
Dimetilsulfóxido-70mg/ml*	33,05	7,79	4,242	0,000	0,000
Dimetilsulfóxido-100mg/ml*	45,2	7,79	5,802	0,000	0,000
15mg/ml-30mg/ml	-18,0	7,79	-2,311	0,021	0,313
15mg/ml-Gentamicina	-19,25	7,79	-2,471	0,013	0,202
15mg/ml-70mg/ml	-21,55	7,79	-2,766	0,006	0,085
15mg/ml-100mg/ml*	-33,7	7,79	-4,326	0,000	0,000
30mg/ml-Gentamicina	-1,25	7,79	-0,16	0,873	1,000
30mg/ml-70mg/ml	-3,55	7,79	-0,456	0,649	1,000
30mg/ml-100mg/ml	-15,7	7,79	-2,015	0,044	0,658
Gentamicina-70mg/ml	2,300	7,79	0,295	0,768	1,000
Gentamicina-100mg/ml	14,45	7,79	1,855	0,064	0,954
70mg/ml-100mg/ml	-12,15	7,79	-1,560	0,119	1,000

El nivel de significancia es 0,05

Fuente: Reporte de IBM SPSS.

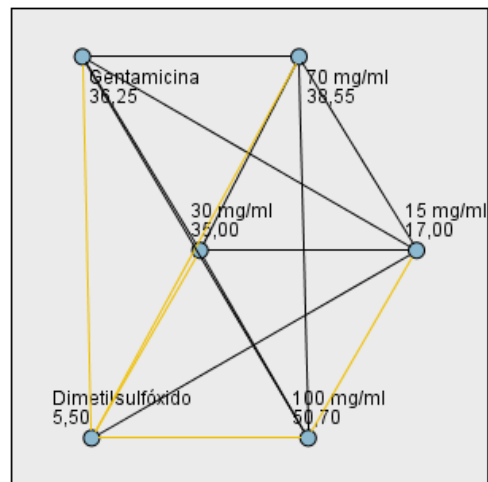


Figura 2. Comparaciones por parejas de dilución antibacteriana

V. DISCUSIÓN

El presente estudio se realizó con el objeto de evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cannabis sativa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Gentamicina μg con las 4 diferentes concentraciones del aceite: 15mg/ml, 30mg/ml, 70mg/ml y 100 mg/ml.

En la Tabla 1 se observa que todas las concentraciones presentaron un efecto antibacteriano. La dilución de 15 mg/ml muestra un bajo efecto antibacteriano, evidenciado por un menor diámetro de inhibición medio. La concentración de 100 mg/ml fue la que muestra mayor diámetro de inhibición medio, alcanzando un IC 95%: de 21.6 a 23.7. La dilución de 30 mg/ml, 70 mg/ml y gentamicina 10 μg muestran un efecto medio de 20.3, 20.8 y 20.9 mm, respectivamente.

La Tabla 2 muestra la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov en la que no se evidencia la distribución normal en los efectos antibacterianos, por lo que se aplicó una prueba no paramétrica análoga al análisis de varianza ANOVA.

En la Tabla 3 considerando los resultados de la prueba de normalidad que indicaron que no se evidencia dicha distribución, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis cuya decisión rechazó la hipótesis nula, lo que indica que el aceite esencial de *Cannabis sativa* tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*. Además, de acuerdo al valor de Sig. = 0.000 < 0.05 de este test se puede indicar que existen diferencias significativas en al menos dos de las diluciones antibacterianas estudiadas.

La Figura 1 revela que las estadísticas de prueba se ajustan para empates, es decir, el efecto antibacteriano de las diluciones del aceite esencial utilizado y la gentamicina fueron similares. Resultados similares al estudio de Ali E. et al¹⁶ quienes encontraron que el aceite de las semillas de *Cannabis sativa* tuvo pronunciada actividad contra *Staphylococcus aureus*, mostrando un halo de inhibición de 28mm. El estudio de Borchardt et al.¹⁷ también demostró la actividad antibacteriana de la planta contra *Staphylococcus aureus*, sin embargo ellos utilizaron el extracto de hojas y tallos.

En la Figura 2 y en la Tabla 4 se evidencia que al comparar las diferencias entre diluciones, considerando un nivel de significancia del 0.05, se encontró que existen

diferencias significativas en los efectos antibacterianos de las diluciones de DMSO y la dilución de 30 mg/ml, así mismo entre la dilución de DMSO y la gentamicina, DMSO y la dilución de 70 mg/ml, y la DMSO y la dilución de 100 mg/ml, debido a que sus valores de significancia fueron menores del 0.05. Lo mismo ocurrió con los efectos de las diluciones de 15 mg/ml y 100 mg/ml, donde se mostró diferencias significativas. En los otros pares de comparación, se evidencia, debido a un valor de sig. > 0.05 que no existe diferencias significativas entre las diluciones experimentadas.

El estudio de Novak J. et al. también reportó que el aceite de *Cannabis sativa* poseía actividad antimicrobiana y esto se debería a la presencia de sesquiterpenos y/o CBD.³⁴

VI. CONCLUSIONES

1. El aceite esencial de *Cannabis sativa* tiene efecto antibacteriano in vitro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, puesto que mostró una media de halos inhibitorios superiores a los valores establecidos por el CLSI en la mayoría de las concentraciones empleadas.
2. La concentración de 100mg/ml del aceite de *Cannabis sativa* tuvo la mayor actividad antibacteriana, mostró halos inhibitorios de 20.2 - 25.5mm, superando la actividad antibacteriana que presentó gentamicina de 19.6 – 24.5mm.
3. La concentración de 70mg/ml del aceite de *Cannabis sativa* mostró efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* puesto que tuvo halos inhibitorios de rango entre 18.6 a 22.5mm.
4. La concentración de 30mg/ml del aceite de *Cannabis sativa* mostró efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*, pues sus halos inhibitorios evidenciaron una media de 20.3 ± 1.1 mm.
5. La concentración de 15mg/ml del aceite de *Cannabis sativa* mostró halos inhibitorios de 16.8 ± 1.6 mm, siendo el de menor actividad.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la ampliación del estudio a concentraciones del aceite diferentes a las de este estudio, contra nuevas cepas y otros patógenos resistentes
2. Considerar evaluar el efecto de los diferentes extractos de *Cannabis sativa*.
3. Probar y comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de otras variedades de la planta como *Cannabis sativa ruderalis* o *indica*.
4. Comprobar el efecto sinérgico del aceite o extractos de *Cannabis sativa* con antibióticos de pobre actividad frente a organismos resistentes.
5. Ampliar el estudio para aplicarse en modelos animales.

VIII. REFERENCIAS

1. Gorwitz R, Kruszon-Moran D, McAllister S, McQuillan G, McDougal L, Fosheim G, et al. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001- 2004. *J Infect Dis.* 2008; 197(9):1226-1234. [Citado: 05/05/2020]
Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article/197/9/1226/869543>
2. Rocha C, Reynolds N, Simons M. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2015; 32(1):139-145. [Citado: 19/09/2018]
Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v32n1/a20v32n1.pdf>
3. Reinert R, Low D, Rossi F, Zhang X, Wattal C, Dowzicky M. Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 60(5):1018-1029. [Citado: 19/09/18]
Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/60/5/1018/2357668>
4. Jones R, Guzman-Blanco M, Gales A, Gallegos B, Castro A, Martino M, et al. Susceptibility rates in Latin American nations: report from a regional resistance surveillance program (2011). *Braz J Infect Dis.* 2013; 17(6): 672-681. [Citado: 10/09/18]
Disponible en: <https://www.scielo.br/pdf/bjid/v17n6/v17n6a09.pdf>
5. Mondino A, Sosa S, Zeinsteger P, García y Santos C. Cannabis intoxication in small animals. *Review. SMVU.* 2019; 55(212): 86-95. [Citado: 20/05/20]
Disponible en: <http://dx.doi.org/10.29155/vet.55.212.7>.
6. Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M, et al. Antibacterial cannabinoids from cannabis sativa: A Structure study. *J Nat. Prod.* 2008; 71(8): 1427-1430. [Citado: 19/07/18]
Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/np8002673>
7. Mahady G. Global harmonization of herbal health claims. *J Nutr.* 2001; 131(3): 1120-1123. [Citado: 03/02/2019]
Disponible en: <https://academic.oup.com/jn/article/131/3/1120S/4687132>

8. Wise R, Soulsby E. Antibiotic resistance--an evolving problem. Vet Rec. 2002; 151(13): 371-372. [Citado: 08/06/19]
Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12403515/>
9. Dixon R. Natural products and plant disease resistance. Nature. 2001; 411(6839): 843-847. [Citado: 18/05/19]
Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11459067/>
10. Ley que regula el uso medicinal y terapéutico del Cannabis y sus derivados. Publicado en el diario oficial El Peruano, Ley N°30681, (Febrero 2019). [Citado: 08/06/19]
11. Tandon C, Mathur P, Sen M, Khatoon S. *Cannabis sativa* L. (Bhang): A Possible Source of New Antibacterial Medicament. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. 2017; 44(44): 221-227. [Citado:25/06/18]
Disponible en: <http://globalresearchonline.net/journalcontents/v44-2/44.pdf>
12. Kaur S, Sharma C, Smita Chaudhry S, Aman R. Antimicrobial Potential of Three Common Weeds of Kurukshetra: An in vitro study. Res. J. Microbiol. 2015; 4(4): 280-287. [Citado: 09/08/18]
Disponible en: <https://scialert.net/abstract/?doi=jm.2015.280.287>
13. Naveed M, Ali Khan T, Ali I, Hassan A, Ali H, Ud Din Z, Hassan Z, et.al. In vitro antibacterial activity of Cannabis sativa leaf extracts to some selected pathogenic bacterial strains. Int. J. Biosci. 2014; 4(4): 65-70. [Citado: 22/10/18]
Disponible en: https://www.academia.edu/24209684/In_vitro_antibacterial_activity_of_Cannabis_sativa_leaf_extract_to_some_selected_pathogenic_bacterial_strains
14. Monika, Kour N, Kaur M. Antimicrobial Analysis Of Leaves Of Cannabis Sativa. Journal of Science. 2014; 4(2): 123-127. [Citado: 22/10/18]
15. Sarmadyan H, Solhi H, Hajimir T, Najarian-Araghi N, Ghaznavi-Rad E. Determination of the antimicrobial effects of hydroalcoholic extract of Cannabis Sativa on multiple drug resistant bacteria isolated from Nosocomial infections. Iranian J. Toxicol. 2014; 7(23): 967-972. [Citado: 09/08/18]
Disponible en: http://ijt.arakmu.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-2-137&slc_lang=en&sid=1
16. Ali E, Almagboul A, Khogali S, Gergeir U. Antimicrobial Activity of Cannabis sativa L. Chinese Medicine.2012; 3(1): 61-64. [Citado: 27/07/18]

Disponibile

en:

<https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=18123>

17. Borchardt J, Wyse D, Sheaffer C, Kauppi K, Fulcher R, Ehlke N, et al. Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *J. Med. Plant. Res.* 2008. 2(5): 98-110. [Citado: 09/08/18]

Disponibile

en:

https://www.researchgate.net/profile/R_Fulcher/publication/266883646_Antimicrobial_activity_of_native_and_naturalized_plants_of_Minnesota_and_Wisconsin/links/544e35770cf29473161a429a/Antimicrobial-activity-of-native-and-naturalized-plants-of-Minnesota-and-Wisconsin.pdf

18. Elsohly M, Slade D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci.* 2005; 78(5): 539-548. [Citado: 15/10/18]

Disponibile en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16199061/>

19. Ashton C. Pharmacology and effects of cannabis: a brief review. *Br J Psychiatry J Ment Sci.* 2001; 178: 101-106. [Citado: 29/06/18]

Disponibile

en:

https://www.researchgate.net/publication/12173045_Ashton_CH_Pharmacology_and_effects_of_cannabis_A_brief_review_Br_J_Psychiatry_178_101-106

20. Hampson A, Grimaldi M, Lolic M, Wink D, Rosenthal R, Axelrod J. Neuroprotective antioxidants from marijuana. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 899:274-282. [Citado: 08/09/18]

Disponibile en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10863546/>

21. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H, Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia.* 2011; 1(1): 98-106. [Citado: 10/10/18]

Disponibile en: <http://docshare01.docshare.tips/files/9403/94036813.pdf>

22. Omojate G, Enwa F, Jewo A, Eze C. Mechanisms of antimicrobial actions of phytochemicals against enteric pathogens – A review. *J Pharm Chem Biol Sci.* 2014; 2: 77-85. [Citado: 29/09/18]

Disponibile en: https://www.jpccbs.info/2014_2_2_3_%20Enwa.pdf

23. Mason T, Wasserman B. Inactivation of red beet betaglucan synthase by native and oxidized phenolic compounds. *Phytochemistry.* 1987; 26(): 2197–2202. [Citado: 03/03/19]

Disponible en: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301430473>

24. Amaral J, Ekins A, Richards S, Knowles R. Effect of selected monoterpenes on methane oxidation, denitrification, and aerobic metabolism by bacteria in pure culture. *Appl Environ Microbiol.* 1998; 64(9): 3546. [Citado: 25/08/18]
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC106076/pdf/am000520.pdf>
25. Moyo B, Masika PJ, Muchenje V, Antimicrobial activities of *Moringa oleifera* Lam leaf extracts. *African Journal of Biotechnology.* 2012; 11(11): 34-42. [Citado: 08/11/18]
Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/100669>
26. De Lucca A, Clevaland T, Rajasekara K, Boue S, Brown B. Fungal properties of CA Y-1, a plant saponin, for emerging fungal pathogens, 45th inter science conference in antimicrobial agents and chemotherapy, Abstract, F-490, 180, 2005. [Citado: 08/11/18]
27. André, F. Haschich, Chanvre et Cannabis: L'éternel retour [Internet], 2011. Paris: Editions l'Harmattan.
28. Sampieri H, Fernandez C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6ta Ed. McGraw-Hill. México. 2016.
29. García J, Reding A, López J. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. 2013; 2(8) pp. 222. [Citado: 17/09/18]
30. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, 2018. [Citado: 17/09/18]
Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf
31. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
Disponible en: <https://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M02-A12-original.pdf>
32. Daniel W. Base para el análisis de las ciencias de salud. Bioestadística. 1991; 22-78. [Citado: 10/10/18]

Disponible

en:

<http://148.206.53.84/tesiuami/Libros/Libros%20digitalizados%2010ene2004/L12.pdf>.

33. Mazzanti M. Declaración de Helsinki. Revista colombiana de bioética. 2001; 6(1): 124-144. [Citado: 10/09/18]
Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1892/189219032009.pdf>
34. Novak J, Zitterl-Eglseer K, Deans S, Franz C. Essential oils of different cultivars of Cannabis sativa L. and their antimicrobial activity. 2001; 16(4): 259-262. [Citado 20/06/20]
Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ffj.993>
35. Rodríguez R. Vademécum académico de medicamentos. 6ta edición. Editorial Mc Graw Hill. Mexico. 2013.
36. Goodman and Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica 12 Edición. Volumen 3. 2012; 1534 – 1535.

ANEXOS

ANEXO 01

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

RG ₁	X ₁	O ₁
RG ₂	X ₂	O ₂
RG ₃	X ₃	O ₃
RG ₄	X ₄	O ₄
RG ₅	X ₅	O ₅
RG ₆	X ₆	O ₆

Donde:

RG₁₋₆: Grupos de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

X₁: Dilución del aceite esencial *Cannabis Sativa* a la concentración de 15mg/ml.

X₂: Dilución del aceite esencial *Cannabis Sativa* a la concentración de 30mg/ml.

X₃: Dilución del aceite esencial *Cannabis Sativa* a la concentración de 70mg/ml.

X₄: Dilución del aceite esencial *Cannabis Sativa* a la concentración de 100mg/ml.

X₅: Control positivo con Gentamicina a 10 µg.

X₆: Control negativo con dimetilsulfóxido.

O₁₋₆: Efecto antibacteriano.

ANEXO 02

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTOS	OPERACIONALIZACIÓN	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
VI: Agente antibacteriano	Capacidad que tiene de inhibir o eliminar el crecimiento de bacterias. ³⁵	Concentración de 15 mg/ml Concentración de 30 mg/ml Concentración de 70 mg/ml Concentración de 100mg/ml Gentamicina 10 µg. Dimetilsulfóxido	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
VD: Efecto antibacteriano	Resultado que se obtiene después de la aplicación de elemento utilizado sobre el desarrollo de un microorganismo. ³⁶	Medida de halos de inhibición, basado en las Breakpoint Tables v8.1 de EUCAST ³⁰ : Sensible: ≥18mm Resistente: <18mm	Eficaz ≥ 18mm No eficaz <18mm.	Cualitativa nominal

ANEXO 03

MUESTRA

Tamaño de muestra:

$$n = \frac{\left(z \frac{\alpha}{2} + z\beta\right)^2 2\delta^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Donde:

$Z\alpha/2 = 1.96$ para un nivel de confianza al 95%.

$Z\beta = 0.84$ para una potencia de prueba al 80%.

$X_1 = 12\text{mm}^6$

$X_2 = 15\text{mm}^{34}$

$\delta = 1.97^6$

$n = 10$ número mínimo de repeticiones por cada concentración.

ANEXO 04
Instrumento

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
PATÓGENO <i>Staphyococcus aureus</i> 25923	CONCENTRACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Cannabis sativa</i>				CONTROL +	CONTROL -
	15mg/ml	30mg/ml	70mg/ml	100mg/ml	Gentamicina 10µg	DMSO
Repetición 1	20,6	20,6	21,5	23,8	20,4	0
Repetición 2	16,5	19,5	21,6	21,7	24,5	0
Repetición 3	17,3	17,7	20,7	23,2	20,6	0
Repetición 4	15,5	20,8	19,5	25,5	21,3	0
Repetición 5	17,2	20,4	22,5	21,1	21,3	0
Repetición 6	15,2	21,2	19,8	21,5	19,8	0
Repetición 7	14,8	19,7	18,6	24,3	20,7	0
Repetición 8	17,1	21	20,5	21,6	20,2	0
Repetición 9	16,6	20,7	20,8	23,7	20,1	0
Repetición 10	17,6	21,7	22,4	20,2	19,6	0

ANEXO 05

PROCEDIMIENTO

1. El aceite esencial de *Cannabis sativa* se obtuvo a través de la Fundación Evidencia Cannabis Perú, cuya formulación está basada resina full spectrum de Cannabis que contienen principalmente cannabinoides, terpenos y flavonoides, además de aceite de oliva extra virgen. Se utilizaron 4 concentraciones distintas: 1500mg, 3000mg, 7000mg y 1000mg en 100ml en presentación de 5ml.



2. Se cultivó la bacteria *Staphylococcus aureus* 25923 en medio de cultivo Müller- Hinton. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.³²
3. Prueba de susceptibilidad: Se llevó a cabo la Valoración del efecto antibacteriano utilizando Kirby-Bauer de difusión con discos según el CLSI y el Breakpoint Tables del EUCAST, teniendo en cuenta estándares M02-A12 y M100.³³

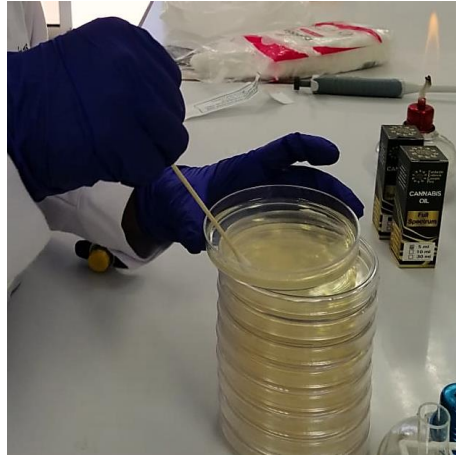
- a. Preparación del inóculo:

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus* 25923, cultivado entre 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.)

- b. Siembra del microorganismo:

Se sembró el microorganismo, embebiéndose un hisopo estéril en el inóculo que se deslizó sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri

(siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.



- c. Preparación de los discos de sensibilidad con aceite esencial
- A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 5 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Este procedimiento se repitió por 10 veces para cada concentración.



d. Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Se utilizó una pinza estéril de metal para colocar los discos de sensibilidad preparados con las 4 concentraciones del aceite que se empleó, sobre el agar con la siembra de *Staphylococcus aureus* 25923, de tal forma que quedaron cada una a un cm del borde la placa y equidistantes. Además se colocó el disco de Gentamicina 10µg en el centro de la placa. Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.



e. Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se hizo para cada una de las concentraciones del aceite esencial, la gentamicina y para el control negativo. Se interpretará como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.³



ANEXO 06
CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO




San Jose
LABORATORIO CLINICO
Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde la Srta. SHANEL MARITHAIN CHACÓN SOLIS, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Cannabis sativa sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con gentamicina", durante los días 5 al 9 de marzo de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud de la estudiante, sólo para fines académicos, a los 8 días del mes de julio de 2020.


José Luis Caila Queveao
BIOLOGO MICROBIOLÓGICO
C.B.P. 8301
Gerente General

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - 📠 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/

ANEXO 07



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

Declaratoria de Originalidad del Autor

Yo, Chacón Solis Shanel Marithain, egresada de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo sede Trujillo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan al Trabajo de Investigación:


“Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cannabis sativa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Gentamicina”

es de mi autoría, por lo tanto, declaro que el Trabajo de Investigación:

1. No ha sido plagiado ni total, ni parcialmente.
2. He mencionado todas las fuentes empleadas, identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes.
3. No ha sido publicado ni presentado anteriormente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Lugar y fecha: Trujillo, 24 de Julio de 2020

Apellidos y Nombres del Autor: Chacón Solis Shanel Marithain	
DNI: 70144182	Firma: 
ORCID: 0000-0003-3057-0584	

ANEXO 08

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, Rodríguez Díaz David Rene, docente de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo sede Trujillo, asesor del Trabajo de Investigación titulado:


“Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cannabis sativa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Gentamicina”

De la autora Chacón Solis Shanel Marithain, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 24% verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender el trabajo de investigación cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Lugar y fecha: Trujillo, 24 de Julio de 2020

Apellidos y Nombres del Asesor: Rodríguez Díaz David Rene	
DNI: 42789014	Firma:  David Rodríguez Díaz MEDICO CIRUJANO C.A.P. 45581
ORCID: 0000-0002-9203-3576	